

Zum histologischen Nachweis von Stärke in Brühwürsten

Günter Krauß

1964

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

ZUM HISTOLOGISCHEN NACHWEIS VON STÄRKE IN BRÜHWÜRSTEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Günter Krauß

aus

Vöhringen

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. L. Kotter

Referent: Professor Dr. L. Kotter

Tag der Promotion: 28.7.1964



Meinen Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. SCHRIFTTUM	2
I. Gesetzliche Bestimmungen	2
II. Zur Chemie der Stärke	3
1. Chemischer Aufbau der Stärke	3
2. Stärkearten und ihr kolloidchemisches Verhalten	5
3. Einfluß von Enzymen	7
III. Einfluß des Stärkezusatzes auf die Beschaffenheit von Fleisch- und Wurstwaren	9
IV. Stärkeabbau in Fleischerzeugnissen	11
V. Einfluß von Temperatur und Schüttung auf das Bindegewebeisweißvolumen in Brühwürsten	12
VI. Methoden zum Nachweis von Stärke in Fleischerzeugnissen	13
1. Orientierende Methoden	13
2. Histologische Nachweismethoden	13
3. Chemische Nachweismethoden	14
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	16
I. Material	16
1. Modellwürste	16
2. Proben aus Bundeswehrbeständen	17

	Seite
II. Methodik	18
1. Histologische Technik	18
2. Auswertung der Schnitte	20
3. Chemische Bestimmung des Stärkegehaltes	20
III. Ergebnisse	21
1. Modellversuche	21
2. Untersuchung von Proben aus Bundeswehrbeständen	29
IV. Besprechung der Ergebnisse	30
D. DISKUSSION	32
E. ZUSAMMENFASSUNG	35
F. LITERATURVERZEICHNIS	36
LEBENS LAUF	

A. EINLEITUNG

Stärke ist einer der Strukturstabilisatoren, die hocherhitzten Fleischwaren zugesetzt werden können, um Gelee- und Fettabsatz zu verhindern. Die Notwendigkeit eines Strukturstabilisators, insbesondere bei hocherhitzten Brühwürsten wurde im Lebensmittelrecht respektiert, jedoch wurde Stärke nicht allgemein zugelassen. Allerdings wurden für die Verwendung von Stärke zur Herstellung von Dosenfleischwaren für die Bundeswehr Ausnahmegenehmigungen gewährt.

Die Überwachung des grundsätzlichen Verbotes der Stärkeverwendung bereitet keine Schwierigkeiten. Mit der Jod-Stärke-Reaktion steht ein qualitativer Schnellnachweis zur Verfügung. Im Hinblick auf die Ausnahmegenehmigungen, aber auch in Anbetracht der Harmonisierungsbestrebungen im EWG-Raum ist es erforderlich, den Stärkenachweis quantitativ zu führen, um zu verhindern, daß Stärke nicht nur als Stabilisator, sondern auch als Streckungsmittel verwendet wird.

Mir wurde daher die Aufgabe gestellt, eine histologische Färbemethode zu entwickeln, mit der die Stärkekomponente selektiv dargestellt und histometrisch erfaßt werden kann. Die Notwendigkeit der quantitativen Erfassung der Stärke über ein histologisches Verfahren hatte sich insbesondere auch aus der Tatsache ergeben, daß sich die Stärke mit der von KOTTER modifizierten Heidenhainschen Azanfärbung gelegentlich wie Bindegewebeiseiweiß anfärbt und dann höhere Bindegewebeiseiweißwerte vorgetäuscht werden.

B. SCHRIFTTUM

I. Gesetzliche Bestimmungen

Die Verwendung von Stärke bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen wurde vom Gesetzgeber in den §§ 3 und 4 der Verordnung über Fleisch und Fleischerzeugnisse (Fleisch-VO) vom 19. Dezember 1959 geregelt. In § 3 Nr. 5 ist unter anderem die Verwendung von quellfähigen und stärkehaltigen Stoffen pflanzlicher Herkunft, ausgenommen Stärkezucker und Gewürze, mit den in § 4 vorgesehenen Ausnahmen grundsätzlich verboten.

Die Ausnahmen des § 4 erstrecken sich auf:

Wurstwaren mit entsprechender Bezeichnung und auf solche, bei deren herkömmlicher orts- oder handelsüblicher Bezeichnung ein Stärkezusatz (z.B. "Grütwurst") erkennbar zu sein pflegt;

die Verwendung zum Binden, Panieren oder zur sonstigen küchenmäßigen Zubereitung von tafelfertigen Fleischgerichten in luftdicht verschlossenen Behältnissen (20) wie Gulasch, Frikassee, Fleischklopse, Rouladen (ausgenommen Kochschinken, Fleisch im eigenen Saft, Corned Beef, Kraftfleisch und Schmalzfleisch) sowie von tafelfertigen Fleisch- und Gemüsegerichten wie Pichelsteiner Fleisch, Serbisches Reisfleisch, Hammelfleisch mit Bohnen;

küchenmäßige Zubereitungen von Fleischerzeugnissen, die in Umhüllungen (ausgenommen luftdicht verschlossene Behältnisse) oder lose in Verkehr gebracht werden;

die Herstellung von Fleischgrundlage für Fleischsalat mit einem Stärkezusatz von höchstens 2 % bezogen auf die verwendete Fleisch- und Fettmenge.

Nach § 20 a (2) 2 des Gesetzes über den Verkehr mit Lebensmitteln und Bedarfsgegenständen (LMG) können Ausnahmegenehmigungen erteilt werden, wonach auch lebensmittelrechtlich unzulässige Stoffe zur Herstellung von bestimmten Lebensmitteln für die Sonderverpflegung von Angehörigen der Bundeswehr und ähnlicher Organisationen verwendet werden dürfen. Auf Grund dieser Ermächtigung gemäß Bekanntmachung des BMI vom 24. Oktober 1960 (GMBI 1960, S. 480), verlängert durch Bek. des BMGes vom

31. Juli 1963 (GMBI S. 281) wird bei der Herstellung bestimmter Lebensmittel für die Sonderversorgung von Angehörigen der Bundeswehr und des Bundesgrenzschutzes die Verarbeitung von 3 % Stärke zugelassen. Nach dem Entwurf einer EWG-Richtlinie ist der Zusatz von Stärke bei Fleisch-erzeugnissen für den EWG-Bereich generell vorgesehen.

II. Zur Chemie der Stärke

1. Chemischer Aufbau der Stärke

Handelsstärke wird aus Samen, Früchten, ober- und unterirdischen Stammteilen und aus knollenförmigen Wurzeln gewonnen. Kartoffelstärke wird aus den unterirdischen Stammknollen, Reis- und Getreidestärke aus Samen gewonnen. Die Stärke ist in den Pflanzen in Form von Stärkekörnern enthalten. Diese sind im Getreideunkraut Kornrade mit 0,001 bis 0,002 mm am kleinsten; die größten Stärkekörner erreichen einen Durchmesser von nahezu 0,2 mm. In der Kartoffelstärke sind sie 0,07 bis 0,11 mm groß.

Die Stärke ist, wie aus den Untersuchungen von MYRBÄCK (28) hervorgeht, keine einheitliche Substanz. Sie enthält zwei Arten von Polysacchariden, die sich in ihrer Konstitution und ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften erheblich von einander unterscheiden: Amylose und Amylopektin. Als wichtigsten Nichtkohlenhydratbestandteil enthält die Stärke nach MICHEEL (27) Phosphorsäure.

Amylose ist ein aus Glukoseresten kettenförmig aufgebautes Polysaccharid. Die Ketten sind schraubenförmig angeordnet. Die Glukosereste sind durch α - 1,4 - Bindungen, dem Bindungstypus der Maltose, verbunden. Amylopektin ist ebenfalls aus Glukoseresten aufgebaut, das Molekül zeigt aber einen stark verzweigten Bau. Amylopektin enthält sowohl α - 1,4 - Bindungen als auch α - 1,6 - (Isomaltose-) Bindungen an den Verzweigungen.

Nach BADENHUIZEN (2) ist das Amylopektin entgegen früheren Auffassungen nicht hauptsächlich im äußeren Teil des Stärkekornes angeordnet, sondern es besteht wahrscheinlich ein Gefälle innerhalb der einzelnen, durch Appositionswachstum gebildeten Schichten des Kornes. Jede Schicht ist auf

der Innenseite aus langen Amyloseketten aufgebaut, an die sich kürzere und solche von Molekülen zunehmenden Verzweigungsgrades (Amylopektin) nach außen hin anschließen.

Nach UHLMANN (42) besitzt das native Stärkekorn keine besondere Hülle. Erst im Verlauf der in tangentialer Richtung erfolgenden Aufweitung des Stärkekornes während des Quellungsprozesses kommt es durch Zusammendrängen der Amylopektinstruktur des Stärkekornes zur Ausbildung einer Kornhülle, wobei gleichzeitig Amylose in Lösung geht.

Von den beiden Komponenten der Stärke gibt die Amylose mit Jod eine tiefblaue, das Amylopektin eine violettrote Färbung, die jedoch meist von der Blaufärbung der Amylose überdeckt wird. Die Jodlösung gibt mit Stärkelösung schon in geringsten Mengen eine tiefblaue Färbung. Diese Reaktion tritt auch auf, wenn die Lösung des Jods auf feste, stärkehaltige Lebensmittel wie Brot oder Kartoffeln gebracht wird. Auch bei stärkehaltiger Wurst entsteht Blaufärbung. Bezüglich der Jodbindung der Stärke bestand früher die Ansicht, daß lediglich die nicht verzweigte Amylose die Farbreaktion bedingt, während das verzweigte Amylopektin unbeteiligt bleibt.

Nach einer Veröffentlichung von HOLLÓ und SZEJTLI (16) ist es aber nun gelungen, reines Amylopektin darzustellen, dessen Jodbindevermögen nicht gleich Null war. Jedoch lag nach Auffassung dieser Autoren entweder eine unvollkommene Trennung von Amylopektin und Amylose vor, oder Amylopektin vermag vermittels seiner Seitenketten entsprechend dem Spiralmechanismus ebenso Jod zu binden wie Amylose. Daneben wird Jod von Amylopektin auch adsorptiv gebunden. Amylose nimmt Jod in zwei Etappen auf. In der ersten Phase wird Jod in das Innere der spiralförmig aufgebauten Amylosemoleküle in der Weise eingelagert, daß in jeder der Windungen ein Jodatombplatz findet. In der zweiten Phase erfolgt Adsorption an die Oberfläche der Amylosemoleküle. Enzyme vermögen nach Angabe der Autoren den Amylose-Jodkomplex nur an jenen Stellen zu spalten, an denen das Innere der Spiralen nicht mit Jod gesättigt ist. Amylopektin-Jod läßt sich durch Enzyme restlos abbauen.

Nach HOLLEMANN (15) geht die blaue Farbe mit der Abnahme der Kettenlänge der Amylose auf wenigstens 30 Glukosereste in Rot über.

Alle Substanzen, die sich mit Jod violett, rot oder gelb färben, geben nach SAMEC (36) das Jod bei Anwesenheit von Kartoffelstärkekörnern an diese ab und werden entfärbt, z.B. Dextrin und Weizenstärkekörner. Letzgenannte färben sich mit Jod violett an.

2. Stärkearten und ihr kolloidchemisches Verhalten

Wird eine wässrige Suspension von Stärke erwärmt, so kommt es, sobald eine bestimmte Temperatur, die sogenannte Verkleisterungstemperatur, erreicht ist, zu ihrer Verkleisterung. Dabei verlieren die Stärkekörner ihre charakteristische Struktur und ihr Volumen wächst auf ein Mehrfaches an, die Stärkekörner platzen und kleben bei entsprechender Konzentration der Stärkelösung aneinander fest. Der abgekühlte Kleister erstarrt zu einem Gel. Der Temperaturbereich, in welchem die Quellung der Stärke stattfindet, ist für jede Stärkeart verschieden; nach SEIDEMANN (38) verkleistert Reisstärke bei 67,5 bis 78,0° C und Weizenstärke bei 53,0 bis 65,0° C.

Die Kleisterbildung ist im wesentlichen auf die Eigenschaften des Amylopektins zurückzuführen. KÖHLER (18) berichtet, daß sich in den Schichten des Stärkekornes zwischen den unregelmäßig verzweigten Molekülen des Amylopektins gewisse Bereiche einer kristallinen Struktur befinden. Diese "Kristallite" sind in den Schichten des Stärkekornes radial angeordnet und durch Amylopektinmoleküle miteinander verbunden. Wird die Verkleisterungstemperatur überschritten, so dringt unter Aufweitung und Lockerung des Gitters Wasser zwischen die "Kristallite" ein, ein loses Netzwerk bleibt aber noch erhalten. Die Amyloseanteile, die zwischen dem Gitterwerk verteilt sind, werden in Freiheit gesetzt und können aus dem Korn diffundieren. Erst bei Erhitzung unter Druck auf über 120° C tritt eine vollkommene Zerstörung des Netzwerkes ein. Die Bestandteile gehen kolloidal in Lösung, ohne daß dabei ein chemischer Abbau der Stärke stattfindet.

Die chemische Eigenschaft des Kleisters wird nach KÖHLER (18) wesentlich durch das Mengenverhältnis von Amylose zu Amylopektin, den Verzweigungsgrad und die Molekülgröße des Amylopektins bestimmt. Das Amylopektin der Kartoffelstärke ist stärker verzweigt als das der Maisstärke. In Verbindung mit dem höheren Gehalt an Amylopektin erklärt sich die höhere Zähigkeit und Elastizität des Kartoffelstärkekleisters gegenüber dem der Maisstärke.

Nach HEYNS (13) kann Kartoffelstärke bis zum 100-fachen ihres Volumens Wasser aufnehmen, dagegen Maisstärke nur etwa das 30-fache.

Nach HOLLÓ, SZEJTLI und BEKE (17) hängt die Verkleisterungstemperatur von folgenden Faktoren ab:

1. Stärkesorte; verschiedene Stärkesorten verkleistern, bedingt durch den unterschiedlichen Kristallisationsgrad, in verschiedenen Temperaturbereichen.
2. Provenienz der Stärke; die klimatischen Unterschiede der Ursprungsländer bedingen unterschiedliche Kristallisationsgrade der Stärke.
3. Feuchtigkeitsgehalt der Stärkekörner; ein Feuchtigkeitsgehalt von über 10 % übt noch keinen Einfluß aus.
4. Korngröße; große Stärkekörner verkleistern infolge größerer mechanischer Schädigung schneller als kleine.
5. Chemische Zusammensetzung der Körner; von Einfluß ist vor allem der Gehalt an Calcium, Phosphor und Lipiden.
6. pH-Wert; unter pH 3 steigt, über pH 11 sinkt die Verkleisterungstemperatur.

Amylase hat auf die Quellungstemperatur keinen Einfluß.

SAMEC (36) bestimmte die Quellungstemperaturen in Gegenwart von Kristalloiden. Für die Änderung der Quellungstemperatur sind bei den Salzen vor allem Anionen maßgebend, die quellungsfördernd wirken, während Kationen nur mehr oder weniger Einfluß auf den Quellungsverlauf haben. Sämtliche Chloride wirken in niedrigen Konzentrationen quellungshindernd, ab einer bestimmten Konzentration jedoch quellungsfördernd. Bei weiterem Ansteigen der Salzkonzentration schwindet dieser Einfluß.

Wird Stärke in wässriger Lösung längere Zeit stärker erhitzt, so entstehen schließlich Produkte, die sich mit Jod nicht mehr anfärben lassen. Bei 120 bis 130° C zerfallen die höheren Amylopektinaggregate und bei 130 bis 180° C erfolgt der Abbau von Amylose und Amylopektin zu kleineren Bruchstücken. Bei 200° C sind keine Bestandteile mehr nachzuweisen, die sich mit Jod anfärben. Die hochmolekularen Abbauprodukte der Stärke sind die Dextrine, die aus einer wechselnden Anzahl von Glukosemolekülen

bestehen, sich in Wasser leicht lösen und einen stark klebrigen Sirup darstellen. Die höchstmolekularen Dextrine (Amylodextrine) geben mit Jod noch eine Blaufärbung, die nächste Abbaustufe (Erythrodextrine) färbt sich mit Jod rot oder braun, die niedermolekularen Dextrine (Achromodextrine) geben keine Jodfärbung.

3. Einfluß von Enzymen

Der enzymatische Abbau von Stärke erfolgt durch α - und β -Amylase.

Nach GUILBOT (12) ist der Stärkeabbau davon abhängig, ob das Enzym in das Substrat eindringen kann. Zum Eindringen sind eine Mindestmenge an Wasser und die Quellung des Stärkekornes erforderlich. Bei schwach gequollenen Körnern dringen die Enzyme durch Risse ein. Bei Kartoffelstärke, die beim Quellen keine derartigen Risse zeigt, erfolgt ein oberflächlicher Abbau.

Nach HOFFMANN-OSTENHOFF (14) werden die Glukosidverbindungen der Amylose durch die α -Amylase wahllos gespalten, wobei Dextringetten unterschiedlicher Länge entstehen. Die Dextrine werden wiederum zu kleineren Polysacchariden abgebaut, die keine Jodreaktion ergeben.

Im weiteren erfolgt unter Einwirkung von α -Amylase ein Abbau teils zu Maltose und teils zu Maltotriose, die wiederum in Maltose und Glukose gespalten wird. Nach HOFFMANN-OSTENHOFF besteht das Endprodukt der Fermentation aus 87 % Maltose und 13 % Glukose.

Die Wirkung der α -Amylase auf Amylopektin ist derjenigen auf Amylose analog. Zuerst entstehen verzweigte Dextrine mittleren Molekulargewichtes, die sich mit Jod violett bis braun anfärben. Später entstehen Dextrine kleineren Molekulargewichtes, die keine Jodreaktion ergeben, und die Abbauprodukte Maltose und Glukose. Die Mengenrelationen der Endprodukte Glukose, Maltose und Isomaltose sind je nach dem Verzweigungsgrad des Amylopektins verschieden.

Durch die β -Amylase wird Amylose nach HOFFMANN-OSTENHOFF (14) vollkommen hydrolysiert, wobei Maltose entsteht.

Aus Amylopektin wird hingegen neben Maltose eine hochmolekulare Substanz, das sogenannte Grenzdextrin gebildet, das mit Jod eine rot-violette Farbreaktion ergibt.

Nach MICHEEL (27) konnten aus Muskel, Leber, Herz und anderen Organen sowie aus Hefe und Kartoffeln Fermente isoliert werden, die nicht hydrolytisch, sondern phosphorolytisch, d.h. nur bei Gegenwart von anorganischem Phosphat Stärke zu spalten vermögen.

Nach HOFFMANN-OSTENHOFF (14) sind α -Amylasen außer im Gewebe höherer Pflanzen (z.B. gekeimtes Getreide) auch in zahlreichen tierischen Geweben und Körperflüssigkeiten (besonders Pankreas und Parotis) enthalten. Das pH-Optimum für die aus tierischem Gewebe isolierte α -Amylase liegt bei 6,9. Zu ihrer Aktivierung sind Cl-Ionen erforderlich.

RÜGGERBERG und RÜGGERBERG (35) haben festgestellt, daß Mikroorganismen wie *Bac. subtilis*, *Bac. mesentericus*, *Bac. polymyxa*, *Cl. acetobutyricum* und *Bac. macerans* ebenfalls Stärke abbauen. Die von Bakterien gebildete Amylase ist derjenigen im tierischen Organismus ähnlich, jedoch mit ihr nicht identisch. Sehr starke α -Amylasebildner sind *Bac. subtilis* und *Bac. mesentericus*. *Bac. macerans* baut Stärke über die sogenannten Schardinger Dextrine zu Aceton ab. Das pH-Optimum für die bakterielle Amylasebildung liegt im Bereich von 4,8 bis 5,0. Hefen vermögen nur geringgradig Stärke abzubauen. Das pH-Optimum liegt dabei im Bereich von 6,0 bis 6,6.

Actinomyceten und Schimmelpilze (*Aspergillus oryzae* und *niger*, *Rhizopus japonicus*) bilden bei Wachstumsbeginn nur α -Amylasen, bei Sporenreife jedoch auch β -Amylasen. Die größte Wirkung entfalten sie bei pH 4,0 bis 5,0.

β -Amylasen finden sich besonders in gekeimtem und ungekeimtem Getreide sowie in Reis, Sojabohnen und Süßkartoffeln, sind jedoch im tierischen Organismus noch nicht nachgewiesen worden. Das Aktivitätsoptimum liegt im Malz bei pH 5,2.

Da der kolloidale Träger der aktiven Gruppe des Enzyms ein Eiweißkörper ist, werden die Enzyme bei Temperaturen inaktiviert, bei denen dieses Protein durch Hitze denaturiert wird. MICHEEL (27) berichtet allerdings, daß α -Amylasen im Gegensatz zu β -Amylasen bei pH 6 bis 7 und einer

Temperatur von 70° C bei Gegenwart von Ca-Ionen noch beständig sind. Weitere Mitteilungen über die Hitzeinaktivierung waren nicht zu finden.

DIERCHEN (8) untersucht den Stärke- und Eiweißabbau durch die Bakterienflora des Getreidekornes. Bei den Bakterien aus der Serratia-Gruppe wird der Stärkeabbau in Gegenwart von Bouillon angeregt und Stärke- Gelatine-Platten werden bei gleichzeitigem erfolgreichem Stärkeabbau schneller verflüssigt als reine Gelatineplatten. Pepsin und Trypsin hemmen die Amylase von *Bac. mesentericus*.

STEINBOCK (40) stellt fest, daß bestimmte Streptokokken und Laktobazillen bei Abwesenheit von reduzierenden Zuckern Stärke mittels eigener α -Amylase abbauen und zu Milchsäure vergären.

III. Einfluß des Stärkezusatzes auf die Beschaffenheit von Fleisch- und Wurstwaren

REUTER (33) und LERCHE (26) stellten heraus, daß Brühwurstkonserven die Sterilisation nicht ohne starken Gelee- und Fettabsatz überstehen können. Durch einen 3 %igen Stärkezusatz kann jedoch ein "absatzloses" ansprechendes Füllgut erhalten werden.

Auch PRÄNDL (31) fordert für hoch erhitzte Fleischerzeugnisse von brühwurstartigem Charakter einen 2 - 3 %igen Stärkezusatz, um zu verhindern, daß in dem aus dem Muskeleiweiß freiwerdenden Hydratationswasser verleimtes Kollagen in Lösung geht und sich als Gallerte im Erzeugnis absetzt.

KOTTER und TERPLAN (24) bedauern besonders auch im Interesse des Verbrauchers einen Gel- und Fettabsatz. Wenn allerdings im Ausland bis zu 20 % Stärke oder dergleichen zugesetzt werden, so könne nicht mehr von einer technischen Notwendigkeit gesprochen werden, und der deutsche Verbraucher nehme noch eher einen Gel- und Fettabsatz in Kauf als einen 20 %igen Mehlezusatz, der als eine enorme Streckung angesehen werden muß. KOTTER und TERPLAN sehen aus diesen Gründen einen 2 - 3 %igen Stärkezusatz als technologisches Maß zur Verhinderung eines Gelee- und Fettabsatzes an. Die Autoren führen weiter an, daß die Verminderung des

Gelee- und Fettabsatzes durch einen 2 - 3 %igen Stärkezusatz einer echten Verbesserung der Wurstkonserven gleichkommt, was sich im übrigen auch aus den Herstellungsvorschriften für Bundeswehrkonserven ergebe, in denen der Stärkezusatz auch bei bestimmten Wurstwaren sogar ausdrücklich vorgeschrieben ist.

NILSSON (29) hat den Einfluß eines Kartoffelstärkezusatzes zu feinstzerkleinerten Würsten (Luncheon-meat u.ä.) histologisch untersucht und im Proteingefüge einer bei 80° C 35 Minuten lang gebrühten Wurst kleine Vakuolen mit amorphen stark basophilen Stärkekörnchen festgestellt. Das durchschnittliche Ausmaß der Fetttropfen schien etwas größer als bei der Kontrollwurst ohne Stärkezusatz. Nach 45 Minuten langem Brühen zeigte sich, daß die Stärkekörnchen in Gruppen angeordnet waren. Im übrigen hatte die Stärke auf das Wurstgefüge keinen Einfluß.

GRAU und FLEISCHMANN (11) haben in Untersuchungen an Fleischbrühwürsten mit einem Gehalt von 5 % handelsüblicher Kartoffelstärke beobachtet, daß die Stärke mit Wasser ein Gel bildet, welches die nicht gequollenen Fleischfasern umhüllt, miteinander verklebt und dadurch gute Bindigkeit des Brätes bewirkt.

Die Kartoffelstärke enthaltende Wurstmasse zeigt einen stumpfen Anschnitt sowie breiige Beschaffenheit ohne wesentlichen Wasseraustritt. Eine pH-Verschiebung findet nicht statt. Bei einer Schüttung von 50 % liegt der tatsächliche Fremdwassergehalt in stärkehaltiger Wurst etwas höher als in der Kontrollwurst, während bei einer Schüttung von 35 % gegenüber der Kontrollprobe kein merklicher Unterschied zu notieren war. Der Gesamtwasserverlust war bei der Wurst mit 35 % Schüttung etwas erhöht und bei der Wurst mit 50 % Schüttung geringgradig erniedrigt.

SCHNIER (37) schlägt vor, für Luncheon-meat die Verarbeitung von 3 % Stärke zuzulassen, da ein Stärkezusatz in Holland, England, Frankreich und Dänemark üblich sei, und eine gleichartige Qualität des deutschen Erzeugnisses insbesondere mit Rücksicht auf den Gemeinsamen Markt unbedingt anzustreben sei.

IV. Stärkeabbau in Fleischerzeugnissen

ALPERS und ZIEGENSPECK (1) haben schon 1923 bekanntgegeben, daß der Stärkeabbau in Wurstwaren am stärksten in Leberwürsten und Pasteten erfolgt. Sie vermuteten neben "Autolyse des Stärkegels" einen enzymatischen Abbau durch Fleischenzyme.

DAHL (7) verfolgte den Verlust der Stärke während Herstellung und Lagerung in 38 verschiedenen stärkehaltigen Wurstsorten. Wie die Untersuchungen ergeben haben, nimmt der Stärkegehalt während des Herstellungsprozesses meist deutlich ab, wenn die Würste einer Hitzebehandlung unterzogen werden, und die Stärke dabei verkleistert. In gleichem Maße nimmt der Stärkegehalt ab, wenn Produkte wie gekochte Kartoffeln und gekochte Grütze verwendet werden. Demgegenüber wird native Kartoffelstärke in Rohwurst aus Schweine-, Kalb- und Rindfleisch nicht abgebaut. Die Stärkekörner bleiben bis zum Verderb der Wurst intakt. Bei Zusatz von gekochten Kartoffeln anstelle von Kartoffelstärke nimmt der Stärkegehalt auch in Rohwürsten ab. In Würsten von größerem Kaliber wird mehr Stärke abgebaut als in dünneren Würsten, was auf die gleiche Abhängigkeit von der erreichten Endtemperatur im Wurstgut hindeutet. Der Stärkeabbau erfolgt auch während der Räucherung und Lagerung.

Als Ursachen für diesen Stärkeabbau kommen nach DAHL in frischem Fleisch wahrscheinlich die α -Amylase in Frage, die durch das Salz aktiviert wird; ferner die im Sommer im Wurstgut erfolgende Säurehydrolyse und der mikrobielle Stärkeabbau. Beim Zusatz von nativer Stärke gehen während der Erhitzung Verkleisterung, Inaktivierung der Fleischenzyme und Zerstörung der vegetativen Formen der Bakterien nebeneinander her. Tierische Amylase und Bakterienaktivität haben in erhitzten, geräucherten Würsten und bei niedrigen Temperaturen gelagerten Würsten auf den Stärkeabbau nur untergeordneten Einfluß.

DAHL folgert aus seinen Untersuchungen, daß die Verkleisterung der Stärke, die eine Vorbedingung für ihren Abbau darstellt, und der Abbau der Amylase die wichtigsten Faktoren für den Stärkeabbau sind.

TEN CATE (6) untersuchte den enzymatischen Abbau der Stärke in roher und gekochter Schweineleber und in rohem und gekochtem Fleisch. Er

gelangte zu dem Ergebnis, daß zur Verzögerung des Stärkeabbaues in Fleischwaren der kritische Temperaturbereich von 60 bis 80° C möglichst rasch passiert werden müsse, weil in diesem Temperaturbereich Stärke in verkleisterter Form vorliegt, und die Amylase noch wirksam ist. Durch Zusatz rohen Fleisches oder roher Leber zum Brät würde der Stärkeabbau wesentlich beschleunigt.

V. Einfluß von Temperatur und Schüttung auf das Bindegewebseiweißvolumen in Brühwürsten

Für die histometrische Erfassung des Stärkegehaltes in Brühwürsten ist das Verhalten des Bindegewebseiweißes ebenfalls von Interesse, zumal durch Stärke Bindegewebe vorgetäuscht werden kann.

Bei Untersuchungen an Modellbrühwürsten hat BAXEVANIS (3) festgestellt, daß höhere Schüttungen höhere Bindegewebseiweißvolumina bedingen. Bei Wasserzusätzen von 50 und 100 % des Fleischanteiles beträgt der Unterschied im Bindegewebseiweißvolumen maximal 5 %.

Einen größeren Einfluß auf das Bindegewebseiweißvolumen haben unterschiedliche Brühtemperaturen. Bei Erhitzung auf 100° C beträgt die Bindegewebseiweißvolumenzunahme gegenüber 70° C durchschnittlich 6 %. Bei Erhitzung der Würste auf 120° C werden wesentlich geringere Bindegewebseiweißvolumenanteile ermittelt als bei Erhitzung auf 100° C. BAXEVANIS erklärt diesen Temperatureffekt damit, daß bei der Erhitzung im Brühwurstbrät zwei gegenläufige Vorgänge stattfinden. Mit steigender Temperatur nimmt zum einen die Hydratation des koagulierten Muskeleiweißes ab, wodurch das Lösungsvolumen für verkleimtes Kollagen vergrößert wird. Dieser Vorgang nimmt bis zu Temperaturen von etwa 100° C kontinuierlich zu. Andererseits scheinen bei Temperaturen über 100° C neben einer wahrscheinlich weiteren Dehydratation am Muskeleiweiß verstärkt Schrumpfungsvorgänge einzusetzen, durch die das freie Wasser und das darin gelöste Kollagen aus dem Koagulat ausgepreßt werden. Das Volumen des eingeschlossenen Wassers und das darin gelöste Kollagen nehmen auf diese Weise ab.

VI. Methoden zum Nachweis von Stärke in Fleischerzeugnissen

1. Orientierende Methoden

Zum orientierenden Nachweis von Stärke in Wurst wird nach LERCHE (26) die frische Schnittfläche mit Jod-Jodkaliumlösung (Lugolprobe) betupft oder ein Stück Wurst (10 g) mit Wasser abgekocht und das erkaltete Wasser mit Lugollösung versetzt. Das Vorliegen von Stärke wird durch Blaufärbung angezeigt. Eine schwach punktförmige Blaufärbung bzw. eine ganz schwache Bläuung des Wassers kann jedoch auch durch Gewürzstärke entstehen.

GRAU (10) berichtet von einem Fall, in dem die Schnittfläche einer Wurst von normaler Beschaffenheit nur eine bräunlich gefärbte Zone aufwies, obwohl chemisch ein Gehalt von 4 % Stärke ermittelt wurde. Die mikroskopische Untersuchung erbrachte das Vorliegen von verkleisterter, offenbar mäßig hydrolysierten Kartoffelstärke.

TRUTTWIN (41) schlägt zur Schätzung des Stärkegehaltes in Wurstwaren vor, verdünnter Jod-Jodkaliumlösung das Filtrat des fraglichen Wurstextraktes zuzugeben und die entstehende Blaufärbung mit zwei Standardlösungen zu vergleichen, von denen etwa die hellere einen Stärkegehalt von 3 %, die dunklere einen solchen von 5 % repräsentiert. Sehr schwache Blaufärbung könne von Gewürzen herrühren oder durch einen Stärkegehalt der Probe von weniger als 1 % bedingt sein.

2. Histologische Nachweismethoden

Zum histologischen Stärkenachweis in Wurst- und Fleischwaren hat WESSELINOFF (43) die Färbung nach BAUER modifiziert. Auch KLEIN (19) berichtet über gute Ergebnisse mit der Darstellung von Stärke in Wurstwaren mittels der Färbung nach BAUER. LERCHE (26) erwähnt daneben die Färbungen mit Kongorot und mit Kongorottusche nach EHRLICH, mit Jod, mit Chlorzinkjod und die Darstellung nach Anreicherung mittels alkoholischer Kalilauge.

NILSSON (29) färbte Gefrierschnitte von feinstzerkleinerten Brühwürsten mit Scharlachrot und Hämalun, meint aber, daß Stärke auch ohne Selektivfärbung anhand morphologischer Kriterien festgestellt werden kann.

MILOVIDOW (9) beschreibt eine Methode zur histologischen Darstellung von Stärke, bei der wahlweise Gentianaviolett, Toluidinblau oder Methylgrün verwendet werden kann. Eine sehr ausführliche Übersicht über Farbstoffe, die Stärke gut tingieren, hat auch SAMEC (36) zusammengestellt. SEIDEMANN (39) untersuchte die Anfärbbarkeit der gebräuchlichsten Handelsstärken (Kartoffel-, Mais-, Reis-, Weizen- und Roggenstärke) und stellte fest, daß mit Gentianaviolett sowohl bei nativer als auch verkleisterter Kartoffelstärke die besten Resultate zu erzielen sind. Verkleisterte Stärke wurde schwächer angefärbt.

KLEIN (19) rät auf Grund seiner histologischen Untersuchungen an Vergleichspräparaten mit abgestuftem Stärkezusatz ab, Mengenangaben über die Höhe des Stärkezusatzes zu machen. Er stellt fest, daß die histologische Untersuchung lediglich orientierend sein kann und im allgemeinen nur darüber Aufschluß geben soll, ob und welche Vegetabilien zugesetzt wurden. Über Vergleichspräparate mit bekanntem Stärkezusatz könnten nur grobe Anhaltspunkte gewonnen werden. Lediglich die chemische Untersuchung könne exakte Ergebnisse liefern.

3. Chemische Nachweismethoden

Nach KRAJCINOVIC und DJUKIĆ-JOVANOVIĆ (25) können die Methoden zur Bestimmung der Stärke unterteilt werden in:

- a) Bestimmungen mit direkter Abscheidung der Stärke nach MAYER-HOFER (5); RASK (5) und FELLEBERG (5).

Das Untersuchungsmaterial wird so lange mit Kalilauge erhitzt, bis Eiweiß und Fett in Lösung gegangen sind und die Stärke als Kaliumverbindung zurückbleibt. Die Stärke wird zurückgewonnen und gewogen.

- b) Polarimetrische Methoden nach LINDNER (5), EWERS (5), GROSSFELD (5) und MANNICH und LENZ (5).

In dem mit HCl gewonnenen Extrakt wird die Ablenkung eines polari-

sierten Lichtstrahles gemessen. Aus dem Drehungswinkel wird der Stärkegehalt berechnet.

- c) Bestimmung nach Hydrolyse mit Säuren oder Diastase nach LINDNER(5), KÖNIG (5), SUTTROFF (5) und LINDNER und LING (5).
Durch Kochen des Untersuchungsgutes mit verdünnten Säuren oder durch Behandlung mit Diastase wird die Stärke verzuckert und der Reduktionswert des Zuckers bestimmt.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. Material

1. Modellwürste

Um bei der histologischen Erfassung der Stärke auch den Einfluß von Schüttung und Brühtemperatur zu berücksichtigen, wurden Modellwürste mit verschiedenen Stärke- und Wassergehalten hergestellt und bei verschiedenen Temperaturen erhitzt.

Das Ausgangsbrät war in der Zusammensetzung der Trockenmasse für alle Chargen identisch und bestand aus drei Teilen sehr gut entsehtem Rindfleisch und einem Teil Speck. Eine Hälfte wurde zu 33 %, die andere zu 50 %, bezogen auf den Magerfleischanteil, geschüttet. Auf den Magerfleischanteil wurden 2,5 %, den Speckanteil 2,0 % Nitritpökelsalz zugegeben.

Aus den beiden Ausgangsmassen mit 35 % bzw. mit 50 % Schüttung wurden stärkefreie Kontrollwürste und solche mit einem Gehalt an 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 5,0 und 7,0 % handelsüblicher Kartoffelstärke hergestellt; die Würste wurden jeweils bei 70° C, 100° C und 110° C erhitzt.

Im einzelnen wurde bei der Herstellung der Modellwürste folgendermaßen verfahren:

Das Ausgangsmaterial wurde gewolft und in sieben gleiche Teile aufgeteilt. Jede Portion wurde dann unter Zugabe von 33 % Eis und des Stärkepulvers in der jeweils erforderlichen Menge ausgekuttert und anschließend die Hälfte des Brätes aus dem Kutter entnommen. Bei dem im Kutter verbliebenen Teil wurde dann die Schüttung auf 50 % erhöht und der Stärkegehalt durch entsprechenden Zusatz auf den des jeweils vorher entnommenen Brätes erhöht. Jede Probe wurde manuell drei Minuten lang gut durchmischt, bei feinsten Einstellung einmal durch die Kolloidmühle gelassen und in Schweinsaitlinge abgefüllt. Die Würstchen wurden bei 80 bis 90° C ca. eine Stunde geräuchert. Ein Drittel der Proben wurde im offenen Gefäß bei 75° C 15 Mi-

nuten lang gebrüht, der Rest mit 2 %iger Salzlake in Dosen gefüllt und von diesen eine Hälfte im Dampftopf bei 100° C, die andere im Autoklaven bei 110° C jeweils 25 Minuten lang erhitzt.

Um einem eventuellen Stärkeabbau in den fertigen Würsten zuvorzukommen, wurden die Proben gleich nach dem Abkühlen zur histologischen Untersuchung in Fixierungsflüssigkeit eingelegt und die chemische Stärkebestimmung vorgenommen.

2. Proben aus Bundeswehrbeständen

An diesen Proben wurde geprüft, inwieweit die bei den Modellwürsten gewonnenen Erkenntnisse Aussagen über den Stärkegehalt von Wurstwaren zulassen, die unter praktischen Bedingungen hergestellt wurden. Bei den Proben handelte es sich um Dosenwürstchen, Bierschinken und Mortadella.

Die Rezeptur dieser Erzeugnisse war:

Dosenwürstchen

12 kg Bullenfleisch
26 kg Rindfleisch
13 kg mageres Schweinefleisch
23 kg fettes Schweinefleisch
26 kg Eisschnee
3 kg Kartoffelstärke

Bierschinken

75 kg mageres Schweinefleisch
20 kg Rindfleisch
2 kg Eisschnee
3 kg Kartoffelstärke

Mortadella

30 kg mageres Rindfleisch
46 kg magerer Schweinebauch
21 kg Rückenspeck
6 kg Eisschnee
3 kg Kartoffelstärke

Temperatur und Dauer der Sterilisation:

Dosenwürstchen:	30 Minuten bei 60 ⁰ C und 35 Minuten bei 115 ⁰ C
Bierschinken:	45 Minuten bei 117 ⁰ C
Mortadella:	40 Minuten bei 121 ⁰ C

II. Methodik

1. Histologische Technik

Da beabsichtigt war, die Stärke zusammen mit dem Bindegewebeiseiweiß quantitativ zu erfassen, erfolgte zunächst eine Aufbereitung der Proben für die von KOTTER (21) modifizierte Heidenhainsche Azanfärbung, wobei den Anweisungen von KOTTER und Mitarbeitern (21, 22, 23) sowie von PRÄNDL (30) entsprechend verfahren wurde:

Von verschiedenen Stellen der einzelnen Probe wurden drei Blöcke entnommen, zur Fixierung 24 Stunden in Müllerscher Lösung eingelegt und danach einige Stunden gewässert. Von jeder Probe wurden dann, und zwar aus verschiedenen Ebenen der drei Blöcke, insgesamt 10 Gefrierschnitte (Schnittstärke 10 ~~mm~~) hergestellt. Die Schnitte wurden 24 Stunden bei Zimmertemperatur getrocknet und anschließend in Anilinblau-Orange-Eisessiglösung gefärbt.

Zur Darstellung der Stärke wurde die Methode von MILOVIDOW (9) dahingehend vereinfacht, daß auf die Mitochondrienfärbung und die Beizung mit Tannin verzichtet wurde. Insgesamt ergab sich folgendes Verfahren:

1. Färben der Schnitte in der Anilinblau-Orange-Eisessiglösung (KOTTER (21));
2. Abspülen der Schnitte in aqua dest;
3. 2 - 5 Minuten Färben in 1 %iger wässriger Gentianaviolettlösung (es wurde Gentianaviolett stand. von BAYER verwendet);
4. Differenzieren in drei Portionen 95 %igen Alkohols;
5. Entwässern in 98 %igem Alkohol;
6. Aufhellen der Präparate durch kurzes Eintauchen in Xylol und
7. Eindecken mit Kanadabalsam.

Ergebnis:

Muskeleiweiß gelb;
Bindegewebsweiß blau;
Stärke violett.

Es wird darauf hingewiesen, daß bei zu langer Behandlung der Schnitte mit Xylol die violette Farbe der Stärke in Blau umschlagen kann.

In weiteren Versuchen wurde die Brauchbarkeit der Färbemethode mit Gentianaviolett bei in Natriumalginat eingebettetem Material untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß sich Natriumalginat mit Gentianaviolett wie Stärke anfärbt. Da in der Praxis sehr häufig fettreiches Probengut zur Untersuchung anfällt, und infolgedessen bei der Vorbereitung des Materials zur histologischen Untersuchung auf Zerkleinerung, Entfettung und anschließende Einbettung des Wurstgutes in Natriumalginat nicht verzichtet werden kann, wurde in Anlehnung an die Jodprobe nach NIELSEN, OKKELS und STOCHHOLM (34) folgende Methode zur färberischen Differenzierung von Stärke in eingebettetem Wurstgut erarbeitet:

1. Präparation der Probe nach PRÄNDL (30) und Färbung der Schnitte in Anilinblau-Orange-Eisessiglösung nach KOTTER (21);
2. Differenzieren in aqua dest.;
3. 5 - 10 Minuten langes Einwirkenlassen von Joddampf⁺⁾ ;
4. Entwässern in aufsteigender Alkoholreihe;
5. Aufhellen in Xylol und
6. Eindecken mit Kanadabalsam.

Ergebnis:

Muskeleiweiß gelb;
Bindegewebsweiß blau;
Stärke violett;

+) Dies geschieht am einfachsten durch Einstellen der Schnitte in eine geschlossene Färbeküvette, auf deren Boden sich einige Jodkristalle befinden, die durch Verbringen der Küvette in ein Wasserbad von 50 - 60° C zum Sublimieren gebracht werden.

Ein Nachteil der histologischen Stärkedifferenzierung mit Jod ist, daß die Farbe nur wenig stabil ist und schon nach etwa 14 Tagen zu verblassen beginnt. Der violette Farbton schlägt über Braun in Gelb um und schwindet schließlich nahezu vollkommen. Dieser Nachteil kann aber erforderlichfalls dadurch behoben werden, daß die Präparate erneut in Joddampf nachgefärbt werden. Dazu werden die Objektträger bis zur Lösung des Kanadabalsams in ein Xylolbad eingelegt, dann die Deckgläschen abgehoben und die Präparate zur erneuten Darstellung der Stärkekomponente wie beschrieben mit Joddampf behandelt.

2. Auswertung der Schnitte

Die Bestimmung des Stärke- und Bindegewebs-eiweißvolumenanteiles erfolgt in einem Arbeitsgang mit dem Pointcounter (32). Von jeder Probe wurden jeweils 10 Schnitte histometriert. Der prozentuale Anteil des Stärke- bzw. Bindegewebs-eiweißvolumens berechnete sich nach den Ansätzen:

$$S = \frac{s \times 100}{m + k + s}$$

$$K = \frac{k \times 100}{m + k}$$

S = Stärkevolumen in %

K = Bindegewebs-eiweißvolumen in %

s = Trefferanzahl für Stärke

m = Trefferanzahl für "Muskeleiweiß" ⁺⁾

k = Trefferanzahl für Bindegewebs-eiweiß

3. Chemische Bestimmung des Stärkegehaltes

Der Stärkegehalt wurde chemisch nach der Methode von BLANCHARD (4) bestimmt.

⁺⁾ Das Nicht-Bindegewebs-eiweiß wird als Muskeleiweiß erfaßt. Dabei handelt es sich praktisch auch nur um Muskeleiweiß, von dem allerdings eventuelle zugesetzte Eiweißarten wie Blutplasma, Milcheiweiß und Hühnereiweiß nicht unterschieden werden können.

Dabei wurde im wesentlichen folgendermaßen verfahren:

Eiweiß und Stärke wurden mit Zinkacetat und Kaliumferrocyanid gefällt. Die Stärke wurde 90 Minuten mit 1,5 n HCl im kochenden Wasserbad hydrolysiert und die gebildete Glukose nach Fällung des Eiweißes mit Phosphorwolframsäure abfiltriert. Die im Filtrat enthaltene Glukose wurde nach der Kupfermethode bestimmt.

III. Ergebnisse

1. Modellversuche

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Einfluß von Schüttung und Temperatur auf das histometrisch feststellbare Stärke- und Bindegewebs-eiweißvolumen sowie auf den chemischen Nachweis der Stärke sind in den Tabellen 1, 2 und 3 zusammengefaßt.

Tabelle 1: , Einfluß der Hitzebehandlung auf Stärke- und Bindegewebeweißvolumen in Würsten mit 33 % Schüttung.

Stärkezusatz in %	Stärkevolumen (Bindegewebeweißvolumen) in % bei Erhitzung auf					
	75° C		100° C		110° C	
	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
0	-- (7)	-- (2,7)	-- (13)	-- (3,5)	-- (8)	-- (4,2)
0,5	4 (6)	5,7 (5,7)	7 (7)	4,2 (13,2)	3 (5)	3,6 (3,1)
1,0	4 (8)	4,7 (7,6)	8 (7)	3,8 (2,1)	7 (7)	1,0 (2,2)
2,0	7 (7)	4,9 (3,3)	13 (8)	6,5 (9,5)	12 (5)	2,4 (8,0)
3,0	10 (7)	13,3 (6,7)	18 (7)	9,0 (3,8)	16 (9)	16,7 (7,0)
5,0	17 (7)	19,8 (8,8)	23 (9)	8,0 (11,6)	22 (9)	4,5 (4,4)
7,0	27 (6)	12,1 (3,9)	34 (9)	7,7 (6,3)	30 (9)	14,7 (6,4)

Zeichenerklärung: $\bar{x}$ = Mittelwert aus 10 histometrierten Präparaten

s^2 = Varianz

Tabelle 2: Einfluß der Hitzebehandlung auf Stärke und Bindegewebeweißvolumen in Würsten mit 50 % Schüttung.

Stärkezusatz in %	Stärkevolumen (Bindegewebeweißvolumen) in % bei Erhitzung auf					
	75° C		100° C		110° C	
	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}$	s^2
0	-- (9)	-- (3,5)	-- (16)	-- (3,7)	-- (10)	-- (4,1)
0,5	2 (6)	0,8 (1,9)	5 (6)	2,4 (9,4)	6 (6)	3,6 (1,8)
1,0	8 (7)	3,0 (3,2)	10 (6)	6,6 (2,1)	12 (6)	5,5 (6,5)
2,0	8 (6)	2,8 (3,2)	12 (7)	5,1 (7,9)	16 (8)	4,2 (4,7)
3,0	13 (5)	17,3 (6,6)	15 (7)	9,9 (6,1)	18 (7)	18,2 (4,7)
5,0	21 (8)	12,7 (8,2)	22 (4)	3,8 (4,3)	23 (8)	10,6 (5,5)
7,0	31 (5)	12,6 (6,0)	32 (6)	5,6 (2,3)	34 (6)	7,0 (1,5)

Zeichenerklärung: $\bar{x}$ = Mittelwert aus 10 histometrierten Präparaten

s^2 = Varianz

Tabelle 3: Einfluß von Schüttung und Temperatur auf den chemischen Nachweis der Stärke.

Stärke- zusatz in ‰	Schüttung d. Magerfleisch- anteiles in ‰	Stärkegehalt in ‰ nach Erhitzung der Proben bei		
		75° C	100° C	110° C
0,5	50	0,6	0,5	0,6
	33	0,6	0,5	0,6
1,0	50	0,8	0,9	0,7
	33	0,9	0,9	0,8
2,0	50	1,9	1,5	1,4
	33	1,9	1,5	1,5
3,0	50	2,5	2,3	2,2
	33	2,6	2,4	2,3
5,0	50	4,2	3,6	3,3
	33	4,3	3,8	3,4
7,0	53	6,3	5,0	4,3
	33	6,4	5,1	4,5

Chem. best.
Stärkezusatz
in %

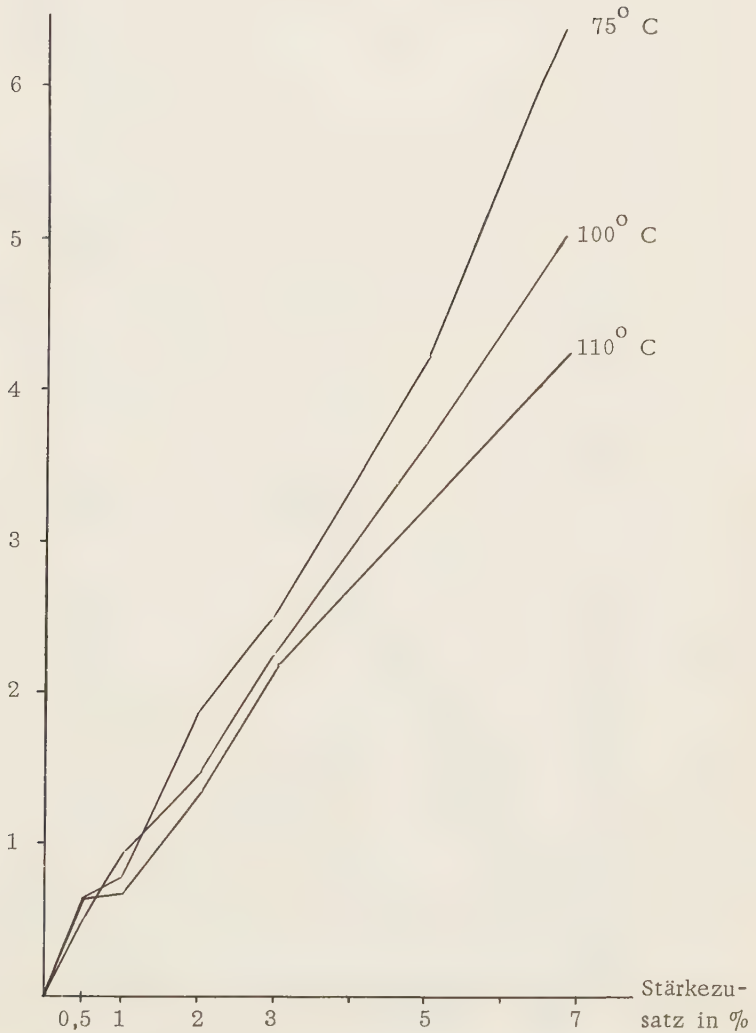


Abb. 1: Einfluß der Temperatur auf den chemischen Nachweis der Stärke in Würsten mit 33 % Schüttung.

Chem. best.
Stärkezusatz
in %

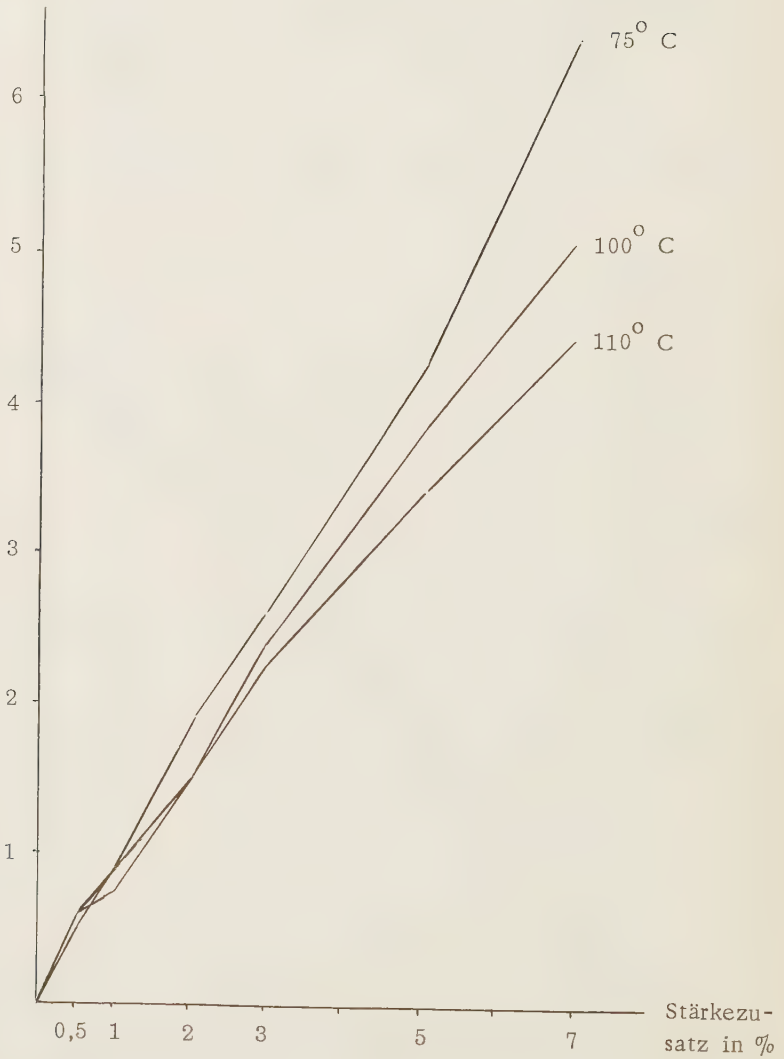


Abb. 2: Einfluß der Temperatur auf den chemischen Nachweis der Stärke in Würsten mit 50 % Schüttung.

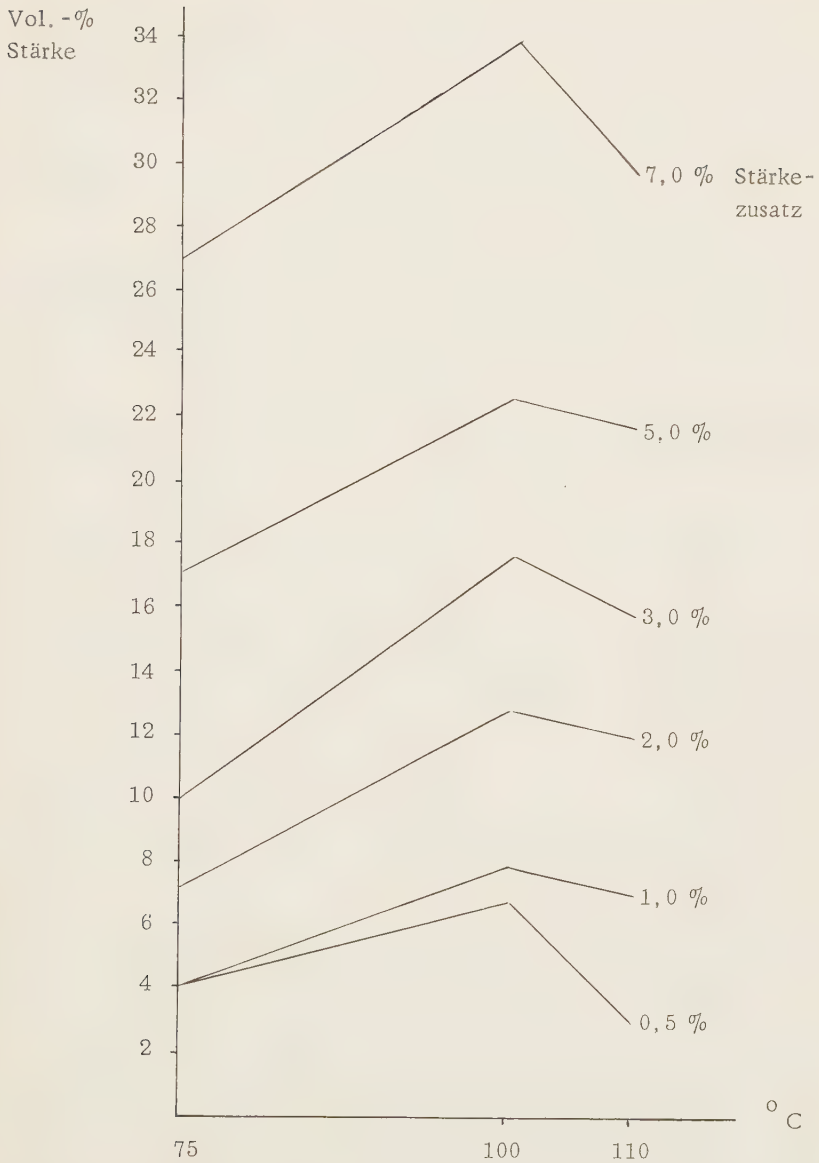


Abb. 3: Einfluß der Hitzebehandlung auf das Stärkevolumen in Würsten mit 33 % Schüttung.



Abb. 4: Einfluß der Hitzebehandlung auf das Stärkevolumen in Würsten mit 50 % Schüttung.

2. Untersuchung von Proben aus Bundeswehrbeständen

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefaßt:

Tabelle 4: Stärke- und Bindegewebseiweißvolumen in Konserven aus Bundeswehrbeständen.

Lfd. Nr.	Bezeichnung der Probe	Stärkevolumen (Bindegewebseiweißvol.) in %	
		$\bar{x}$	s^2
1	Dosenwürstchen	-- (32) ⁺	-- (8,5)
		13 (25)	5,9 (13,4)
2	Mortadella	13 (17)	10,1 (13,1)
3	Mortadella	13 (18)	13,2 (16,2)
4	Mortadella	12 (24)	8,9 (16,7)
5	Mortadella	12 (19)	2,6 (15,6)
6	Mortadella	13 (21)	0,9 (5,8)
7	Mortadella	12 (22)	6,2 (16,7)
8	Bierschinken	16 (18)	11,3 (16,4)
9	Bierschinken	16 (20)	17,8 (5,5)
⁺) Bei den Dosenwürstchen stand ausnahmsweise eine stärkefreie Kontrollprobe zur Verfügung.			

Zeichenerklärung:

$\bar{x}$ = Mittelwert aus 10 histometrierten
Präparaten
 s^2 = Varianz

IV. Besprechung der Ergebnisse

Bei der histometrischen Bestimmung des Stärkegehaltes wurde festgestellt, daß steigende Stärkezusätze steigende Stärkevolumina bedingen. Der Korrelationskoeffizient zeigte, daß der Zusammenhang zwischen Zusatz und gemessenem Volumen eng war.

Hinsichtlich des Einflusses der Temperatur auf das histometrisch ermittelte Stärkevolumen ergibt sich aus Tabelle 1 und Abb. 3, daß das Stärkevolumen in den Würsten mit 33 % Schüttung bis zur Erhitzung auf 100° C steigt und dann wieder etwas absinkt. Mit Ausnahme der Probe mit 0,5 % Stärkezusatz war jedoch das Stärkevolumen in denjenigen bei 110° C erhitzten Proben immer noch größer als in den bei 75° C gebrühten Würsten.

Die Unterschiede im Stärkevolumen zwischen den bei 75° C und 100° C sowie zwischen den bei 100° C und 110° C erhitzten Proben konnte mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen statistisch gesichert werden.

Bei den Würsten mit 50 % Schüttung war, wie aus Tabelle 2 und Abb. 4 hervorgeht, an bei 110° C gebrühten Würsten noch ein weiterer Anstieg des Stärkevolumens zu verzeichnen.

Die Unterschiede bei den Stärkevolumina zwischen den bei 75° C und 100° C bzw. 75° C und 110° C bzw. 100° C und 110° C erhitzten Proben konnten mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen statistisch gesichert werden.

Wie aus Tabelle 1 und 2 und Abb. 3 und 4 hervorgeht, wiesen mit 50 % geschüttete Würste bei Erhitzung auf 75° C und 110° C mit einer Ausnahme (Probe mit 0,5 % Stärkezusatz) größere Stärkevolumina auf als mit 33 % geschüttete. Bei Erhitzung auf 100° C war das Stärkevolumen in den Würsten mit 50 % Schüttung mit einer Ausnahme (Stärkezusatz 1 %) geringer als in den Vergleichsproben. Die Vergrößerung des Stärkevolumens infolge stärkerer Schüttung konnte jedoch nur bei den auf 110° C erhitzten Würsten statistisch gesichert werden.

Bei den stärkefreien Kontrollwürsten war, wie aus Tabelle 1 und 2 zu ersehen ist, das Bindegewebeiseiweißvolumen bei 75° C und bei 110° C kleiner

als bei 100° C. Wenngleich sich die Streuungen um den Mittelwert bei den einzelnen Erhitzungsgraden überschneiden, so konnte diese Tendenz unabhängig vom Schüttungsgrad beobachtet werden. Bei den zu 50 % geschütteten Würsten wurde allerdings ein etwas höheres Bindegewebeiseiweißvolumen ermittelt als bei den zu 33 % geschütteten, jedoch überschneiden sich auch hierbei die Streuungen um den Mittelwert.

Aus Tabelle 1 und 2 geht weiter hervor, daß ein Stärkezusatz (schon ab 0,5 %) unabhängig von Schüttung und Hitzebehandlung der Würste das Bindegewebeiseiweißvolumen verringert. Ein mit steigendem Stärkezusatz erhöhter Einfluß zeichnet sich allerdings nicht ab.

Aus Tabelle 4 geht hervor, daß bei den dort aufgeführten Proben der Bindegewebeiseiweißvolumengehalt durchweg größer war als bei den Modellwürsten eigener Herstellung. Bei den Dosenwürstchen war das Bindegewebeiseiweißvolumen in den stärkefreien Proben um 7 % größer als in denen mit 3 % Stärkezusatz hergestellten Würsten. Das im Bierschinken ermittelte Stärkevolumen war etwas größer als dasjenige in Würstchen und Mortadella.

Die chemische Untersuchung der einzelnen Proben auf deren Stärkegehalt hat ergeben, daß bei höheren Temperaturen weniger Stärke nachgewiesen werden konnte, als zugegeben worden war. Wie aus Tabelle 3 und Abb. 1 und 2 ersichtlich ist, deutete sich diese Tendenz bereits ab 1 % Zusatz an. Verluste waren allerdings nur bei den höheren Stärkezusätzen von 5 und 7 % deutlich.

D. DISKUSSION

Die quantitative Erfassung von Stärke in Wurstwaren wird schon seit langem über chemische Nachweismethoden vorgenommen. Dies erfordert jedoch gesonderte Untersuchungen. Dieser Arbeit lag das Bestreben zu Grunde, die Stärkebestimmung ohne wesentlichen Mehraufwand simultan mit der histometrischen Bindegewebeiseiweißbestimmung zu koppeln, wobei gleichzeitig der Fehler beseitigt werden sollte, der sich bei der Bindegewebeiseiweißbestimmung in stärkehaltigen Würsten dadurch ergibt, daß durch Stärke Bindegewebeiseiweiß vorgetäuscht wird.

Als Methode der Bindegewebeiseiweißbestimmung wurde die von KOTTER (21) modifizierte Heidenhainsche Azanfärbung angewendet, da sie gegenüber der Calleja- und van Gieson-Färbung den Vorzug des stärkeren Farbkontrastes hat. Die Auswertung der Schnitte wird dadurch wesentlich erleichtert, so daß sie im allgemeinen dem erfahrenen technischen Personal überlassen werden kann. Daher lag es nahe, die Anilinblau-Orange-Eisessigfärbung durch Einbeziehen eines stärkepezifischen Farbstoffes (Gentianaviolett oder Jod) für die gleichzeitige Bestimmung von Bindegewebeiseiweiß- und Stärkevolumen zu kombinieren.

Daß sich Gewürzstärke sowohl mit Gentianaviolett als auch mit Jod anfärbt, fällt nicht ins Gewicht, weil Gewürzpartikel an ihrer Struktur ohne weiteres zu erkennen sind und in ihrer Gesamtheit kein nennenswertes Volumen ergeben.

Es konnte auf Grund der kolloidchemischen Eigenschaften der Stärke erwartet werden, daß insbesondere Temperatur und Wassergehalt das Volumen der Stärke bestimmen. Ein einheitlicher Einfluß von Temperatur und Schüttung sowohl auf den histometrisch als auch auf den chemisch ermittelten Stärkegehalt in den Modellwürsten zeichnete sich allerdings erst bei den Zusätzen von mehr als 2 % (siehe Abb. 1, 2, 3 und 4) ab. Diese Feststellung wird darauf zurückgeführt, daß der methodische Fehler bei den niedrigen Stärkezusätzen von 0,5 und 1 % relativ größer ist als bei den höheren Zusätzen.

Bei den chemisch ermittelten Stärkewerten fällt auf, daß diese in den Würsten mit Stärkezusätzen von mehr als 2 % insbesondere bei den höher als

75⁰ C erhitzten Proben deutlich niedriger waren als der tatsächliche Zusatz (Abb. 1 und 2). Hierfür kommen im wesentlichen zwei Ursachen in Frage:

1. Infolge höherer Erhitzung wird mehr Stärke verkleistert, wobei nach DAHL (7) ein vermehrter Stärkeabbau zu verzeichnen ist.
2. Höhere Temperaturen fördern die Bindung von Stärke an Aminosäuren (MAILLARD-Reaktion), wodurch ein gewisser Stärkeanteil bei der chemischen Bestimmung nicht hydrolysiert und erfaßt wird.

Bei der chemischen Stärkebestimmung wird mit dem eigentlichen Stärkezusatz neben der Gewürzstärke auch noch Fleischglykogen miterfaßt. Da sowohl der Glykogengehalt des Fleisches als auch der Stärkegehalt der Gewürze sehr gering ist, können sie bei der Stärkebestimmung vernachlässigt werden.

Während für die Differenz zwischen zugesetzter und chemisch ermittelter Stärke chemische Vorgänge verantwortlich zu machen sind, kommen für die histologisch ermittelten Unterschiede in erster Linie physikalische Ursachen in Betracht. Bemerkenswert ist, daß unterschiedliche Wassergehalte offenbar auch verschiedene Verlaufsformen hinsichtlich der Veränderungen des Stärkevolumens in stärkehaltigen Würsten bedingen. Während bei den zu 33 % geschütteten Würsten nach Erreichen des maximalen Volumens bei 100⁰ C eine Abnahme erfolgt, war bei den höher geschütteten Würsten auch bei Temperaturen über 100⁰ C eine weitere Volumenzunahme zu beobachten. Da die ermittelten Stärkevolumina immer in Relation zu den beiden übrigen Komponenten, Bindegewebeisweiß und Muskeleiweiß stehen, ist eine Aussage, ob es sich um absolute oder relative Volumenveränderungen handelt, nicht möglich. Die Tatsache, daß sich das Kollagenvolumen in stärkefreien Würsten hinsichtlich seiner Zu- und Abnahme im Verlaufe der gleichen Erhitzung ähnlich verhält wie das Stärkevolumen in den Würsten mit 33 % Schüttung, würde dafür sprechen, daß zu Vorgängen am Kollagen keine Beziehung besteht, während die verstärkte Volumenzunahme in den mit 50 % geschütteten Würsten bei der Erhitzung auf 110⁰ C auch so gedeutet werden könnte, daß sie zumindest zum Teil auf Kosten der Kollagenvolumenabnahme erfolgt.

Vergleicht man die Stärkevolumenprozente der beiden im Wassergehalt unterschiedlichen Chargen bei den verschiedenen Temperaturen, so ergibt sich,

daß bei 75° C und bei 110° C die wasserreichen Proben höhere Werte aufweisen, während bei 100° C in den geringer geschütteten Würsten höhere Werte für Stärke zu notieren waren. Der Unterschied bei 75° C kann damit erklärt werden, daß in der wasserreicheren Wurst eine stärkere Quellung der Stärke erfolgt. Für Unterschiede bei den anderen Temperaturen kann ohne weitere Untersuchungen keine Erklärung gegeben werden.

Der histometrisch ermittelte Stärkevolumenanteil am Gesamtvolumen betrug bei den aus Bundeswehrbeständen stammenden Konserven 12 bis 16 %. Diese Werte stimmen mit den bei 110° C sterilisierten Modellwürsten mit 33 %iger Schüttung und 3 %igem Stärkezusatz relativ gut überein, was jedoch insofern kritisch zu beurteilen ist, als sich die Rezepturen (insbesondere Schüttung und Bindegewebsgehalt) von denjenigen der Modellwürste unterscheiden.

Ein Einfluß des Stärkezusatzes auf das histometrisch erfaßbare Bindegewebs-eiweißvolumen im Sinne einer Verminderung war zunächst nur bei der Erhitzung auf 100° C deutlich. Dafür, daß in kollagenreicherem Material als den Modellwürsten ein solcher Einfluß auch bei 110° C besteht, sprechen die Untersuchungen an den Bundeswehrdosenwürstchen und die Ergebnisse aus einem nachträglichen orientierenden Versuch. Bei letzterem ergaben Erhitzungen auf 75° C bzw. 110° C in den stärkefreien Proben Bindegewebs-eiweißvolumina von 26 % bzw. 19 % und in den Proben mit einem Stärkegehalt von 3 % Volumina von 22 % bzw. 13 %.

Das Stärkevolumen in Brühwürsten läßt sich histometrisch zuverlässig ermitteln. Ob mit diesem Untersuchungsverfahren hinreichend genaue Rückschlüsse auf die tatsächlich zugesetzte Stärkemenge möglich sind, müßte noch an umfangreicherem Material geprüft werden. Insbesondere sollte für weitere Untersuchungen kollagenreicheres Ausgangsmaterial verwendet werden, so daß die normalen Herstellungsbedingungen respektiert sind.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die von KOTTER modifizierte Heidenhainsche Azanfärbung wurde zur simultanen Volumenbestimmung des Bindegewebs- und des Stärkeanteiles in Brühwürsten mit einem Verfahren zur Färbung der Stärke mittels Gentianaviolett oder Jod kombiniert.
2. Das Stärkevolumen in Brühwürsten ist abhängig von dem Wassergehalt des Bräts und dem Ausmaß der Erhitzung.
3. In stärkehaltigen Würsten ist der Bindegewebsseiweißgehalt niedriger als in stärkefreien Proben.
4. Das in den zu 33 % geschütteten und bei 110° C erhitzten Modellwürsten mit 3 %igem Stärkezusatz ermittelte Stärkevolumen stimmte mit demjenigen in den Würsten aus Bundeswehrbeständen relativ gut überein.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Alpers, K. und
H. Ziegenspeck: Beiträge zur Beurteilung der Stärke-
bestimmungsverfahren. Zeitschr. f.
Unters. d. Nahrungs. u. Genußmittel
45 (1923), 163.
2. Badenhuizen, N.P.: Über die Struktur des Stärkekornes.
South African J. Sci. 56 (1960), 285.
3. Baxevanis, D.: Über Einflüsse auf das Kollagenvolumen
von Brüh- und Rohwürsten. Diss. med.
vet. München 1962.
4. Blanchard, J.F.: Report on Starch in Meat Products.
J. Ass. of agric. Chem. 41 (1958),
288.
5. Bömer, A.,
A. Juckenack,
J. Tillmans: Handbuch der Lebensmittelchemie,
Bd. 2: Allgem. Untersuchungsmetho-
den, 2. Teil: Chem. u. biolog.
Methoden. Verlag Julius Springer,
Berlin 1935, 625, 913 - 924.
6. Cate, ten L.: Stärke und Amylase in Fleischwaren.
Fleischwirtschaft 15 (1963), 1021.
7. Dahl, O.: Decomposition of Starch in Sausage
Products. Food Research 23 (1958),
161.
8. Dierchen, W.: Bakterieller Stärkeabbau in Abhängig-
keit von natürlichen Stickstoffquellen
und proteolytischen Enzymen. Die
Stärke 5 (1953), 133.

9. Glick, D.: Technique of Histo- and Cytochemistry. Interscience Publishers, New York / London 1949, 51.
10. Grau, R.: Die Verwendung von Stärkehydrolysenprodukten bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen. Die Stärke 13 (1961), 332.
11. Grau, R. und O. Fleischmann: Brätzusatzmittel und Fremdwasser bei Fleischbrühwürsten. Dt. Lebensmittelrundschau 48 (1952), 180.
12. Guilbot, A.: Einwirkung von enzymatischen Amyolysen auf die hygienischen und organoleptischen Eigenschaften der aus stärkereichen Produkten hergestellten Lebensmittel. Die Stärke 16 (1964), 44.
13. Heyns, K.: Die neueren Ergebnisse der Stärkeforschung, Bd. 103. Verlag Friedrich Vieweg und Sohn, Braunschweig 1949, 72.
14. Hoffmann-Ostenhoff, O.: Enzymologie. Verlag Julius Springer Berlin, 1954, 233 - 239, 318 - 385.
15. Hollemann, A.F.: Lehrbuch der Chemie, 2. Teil: Organ. Chemie. Verlag Walter de Gruyter und Co., Berlin 1953, 251 - 253.
16. Holló, J. und J. Szejtli: Die Stärke-Jodreaktion. Brauwissenschaft 13 (1960), 348.
17. Holló, J., J. Szejtli und G. Beke: Studien über die Verkleisterung der Stärke. 1. Mitteilung: Photometrische Methode zur Untersuchung der Verkleisterung. Die Nahrung 2 (1958), 697.

18. Köhler, R.: Neuere Anschauungen über den Feinbau der Stärke und ihrer in der Technik verwendeten Umwandlungsprodukte. Die Stärke 1 (1949), 10.
19. Klein, H.: Zum Nachweis von Vegetabilien in Wurstwaren. Arch. Lebensmittelhyg. 6 (1955), 229.
20. Klein, G.,
H.-J. Rabe und
H. Weiss: Lebensmittelgesetz und lebensmittelrechtliche Verordnungen. 3. Ergänzungslieferung März 1963. Verlag B. Behr's GmbH, Hamburg-Berlin-Düsseldorf. Erläuterung 5 a zu § 4 Fleisch-VO.
21. Kotter, L.: Zum Nachweis kollagener Substanzen in Wurstwaren, Wien. Tierärztl. Mschr. 44 (1957), 705.
22. Kotter, L. und
E. Degenkolb: Zur Beurteilung und zum Nachweis kollagener Substanzen. Fleischwirtschaft 8 (1956), 191.
23. Kotter, L.,
O. Prändl und
C. Gervasini: Experimentelle Grundlagen für die Beurteilung des Kollagenvolumens von Brühwürsten, Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 243.
24. Kotter, L. und
G. Terplan: Um den Zusatz von Bindemitteln bei Dosenwurst und Luncheon Meat. Fleischwirtschaft 11 (1959), 437.
25. Krajcinović, M. und
J. Djukić-Jovanović: Über den Einfluß der Salzsäure auf den hydrolytischen Abbau von Stärke und Stärkerohstoffen im Zusammenhang mit der quantitativen Bestimmung der Stärke. Zschr. f. Lebensmittel-Unters. u. -Forschg., 103 (1956), 350.

26. Lerche, M.,
V. Goerttler und
H. Rievel:
Lehrbuch der Tierärztlichen Lebens-
mittelüberwachung. Verlag
M. und H. Schaper, Hannover 1957,
466, 467, 522, 628.
27. Micheel, F.:
Chemie der Zucker und Polysacchari-
de, 2. Auflage. Akademische Ver-
lagsgesellschaft Geest und Portig K.G.,
Leipzig 1956, 281 - 289.
28. Myrbäck, K.:
The Enzymes, herausgegeben von
J.B. Sumner und K. Myrbäck, Bd. 1/1.
Verlag Academic Press, New York
1950, 653.
29. Nilsson, T.:
Histologische Untersuchung von fein-
zerkleinerten Würsten. Bericht Nr. 56
der 7. Internationalen Tagung der
Europäischen Fleischforscher in War-
schau. Referiert in: Fleischwirtschaft
14 (1962), 416.
30. Prändl, O.:
Über die Einbettung von Wurstproben
für die histologische Untersuchung.
Arch. Lebensmittelhyg. 10 (1959), 62.
31. Prändl, O.:
Die Bedeutung der Kohlehydrate für
die Fleischverarbeitung. Fleischwirt-
schaft 13 (1961), 49.
32. Prändl, O.:
Die histologische Analyse von Wurst-
waren. Grundlagen für die quantitati-
ve Auswertung histologischer Präpara-
te. Habilitationsschrift, Verlag
G. Röttger, München 1961, 92.
33. Reuter, H.:
Der Vollkonserve gehört die Zukunft.
Vieh- und Fleischwirtschaft 10 (1958),
231.

34. Romeis, B.: Mikroskopische Technik. Verlag
Leibnitz, München 1948, 257.
35. Rüggeberg, E. und
H. Rüggeberg: Über mikrobielle Amylasen.
Die Stärke 3 (1951), 10.
36. Samec, M.: Kolloidchemie der Stärke. Verlag
T. Steinkopff, Dresden und Leipzig
1927, 142, 160, 172 - 177, 188,
213 - 216, 320.
37. Schnier, L.: Ein aktuelles Thema: Luncheon Meat?
Vieh- und Fleischwirtschaft 1958, 260.
38. Seidemann, J.: Über den Nachweis von Reismehl in
Weizenmehl. Dt. Lebensmittelrund-
schau 58 (1962), 168.
39. Seidemann, J.: Über die Brauchbarkeit von Farbstoffen
in der Stärkemikroskopie. Die Stärke 14
(1962), 348.
40. Steinbock, H.: Zur Frage des Stärkeabbauvermögens
einiger Milchsäurebakterien. Milch-
wiss. Ber. 12 (1962), 73.
41. Truttwin, H.: Schätzung des Stärkegehaltes in Wurst-
waren. Zschr. f. Lebensmittel-Unters.
u.-Forschg. 99 (1954), 126.
42. Uhlmann, M.: 10 Jahre Abteilung für Stärkeforschung
des Instituts für Ernährung Potsdam-
Rehbrücke, der Deutschen Akademie
der Wissenschaften zu Berlin. Die Stärke
12 (1960), 18.
43. Wesselinoff, W.: Über den Nachweis von Vegetabilien in
Fleischwaren. Dt. Tierärztl. Wschr./Dt.
Tierärztl. Rsch. 29/30 (1943), 289.

An dieser Stelle erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. L. Kotter für Anregung zu dieser Arbeit und wohlwollende Förderung auf-
richtig zu danken.

Den Herren Professor Dr. O. Prändl, Privatdozent Dr. G. Terplan,
Dr. F. Lorck und Dr. G. Pfeiffer danke ich für die freundliche
Beratung, Frau Ursula Kluge für die technische Einweisung.

LEBENS LAUF

Am 26. Dezember 1936 wurde ich, Günter Krauß, als Sohn des Ingenieurs Eduard Krauß und seiner Ehefrau Klara, geb. Korff, in Finow/Mark Brandenburg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule 1943 in Finow und 1945 in Hassendorf, Schleswig-Holstein, trat ich 1948 in die Oberrealschule der Herz-Jesu-Brüder in Illertissen ein, von der ich 1951 an das Kepler-Gymnasium in Ulm überwechselte; dort bestand ich 1957 die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1957/58 begann ich das Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München und legte dort 1962 das Tierärztliche Examen ab.

